

10/801511

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
29 de Enero de 2004 (29.01.2004)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2004/009206 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: B01D 12/00,
C07C 39/08, 39/11, 39/10

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2003/000085

(22) Fecha de presentación internacional:
20 de Febrero de 2003 (20.02.2003)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P200201671 17 de Julio de 2002 (17.07.2002) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo
US): CENTRO DE INVESTIGACIONES ENERGÉTICAS,
MEDIOAMBIENTALES Y TECNOLÓGICAS
(C.I.E.M.A.T.) [ES/ES]; Avenida Complutense, 22,
E-2840 Madrid (ES).

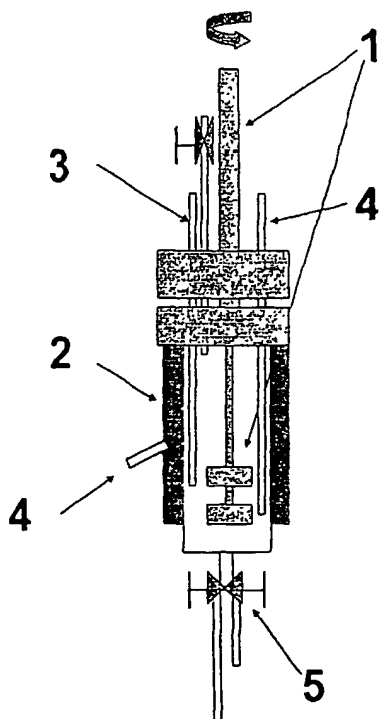
(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): BALLE-
TEROS PERDICES, Mercedes [ES/ES]; Calle Mirador
de la Reina, 30, portal E-1^ºB, E-28035 Madrid (ES).
NEGRO ÁLVAREZ, María José [ES/ES]; C7 Valle
de Bergantiños, 15-4^ºB, E-28039 Madrid (ES). MAN-
ZANARES SECADES, Paloma [ES/ES]; c/ Costa
Rica, 11-1^ºA 27, E-28016 Madrid (ES). BALLE-
TEROS PERDICES, Ignacio [ES/ES]; c/ Maiz, 11-1^ºA,
E-28026 Madrid (ES). OLIVA DOMINGUEZ, José

[Continúa en la página siguiente]

(54) ~~Title:~~ METHOD OF EXTRACTING PHENOLIC COMPOUNDS FROM A RESIDUAL PLANT MATERIAL USING A HY-
DROTHERMAL PROCESS

(54) Título: PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE UN MATERIAL VEGE-
TAL RESIDUAL MEDIANTE UN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO



(57) **Abstract:** The invention relates to a hydrothermal process which is based on bringing the raw residual plant material into contact with hot water in a closed reactor. The inventive process comprises the following steps: a) in a reactor, bringing the material to be treated into contact with water and adjusting the solid/liquid ratio such that it is between 1/5 and 1/15 (p/v); b) stirring the aforementioned mixture; c) heating same to a temperature of between 180° and 240 °C and at a pressure such that the water remains in the liquid phase; d) stirring the mixture for a period of between 4 and 30 minutes; and e) cooling the reactor to approximately 40 °C, unloading the mixture and recovering the liquid fraction.

(57) **Resumen:** El tratamiento hidrotérmico se basa en poner en contacto el material vegetal residual bruto con agua caliente en un reactor cerrado comprendiendo las siguientes etapas: a) poner en contacto, en un reactor, el material a tratar con agua y ajustar la relación sólido/líquido de manera que esté comprendida entre 1/5 y 1/15 (p/v); b) agitar; c) calentar a una temperatura entre 180° y 240 °C, y a una presión tal que se mantenga el agua en fase líquida; d) mantener la mezcla en agitación durante un periodo de tiempo comprendiendo entre 4 y 30 min; y e) enfriar el reactor hasta 40 °C aproximadamente, descargar la mezcla, filtrar y recuperar la fracción líquida.

WO 2004/009206 A1



Miguel [ES/ES]; Urbanización Nuevo Versailles, 203-4°A, E-28942 Fuenlabrada (ES).

(74) Mandatario: **GARCÍA-CABRERIZO Y DEL SANTO, Pedro María**; Vitruvio 23, E-28006 Madrid (ES).

(81) Estados designados (*nacional*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (*regional*): patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

**PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION DE COMPUESTOS FENOLICOS A
PARTIR DE UN MATERIAL VEGETAL RESIDUAL MEDIANTE UN
TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO**

Objeto y Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos mayoritarios presentes en materiales vegetales residuales brutos, en particular en el residuo bruto del proceso de obtención de aceite de oliva en dos etapas, denominado "alpeorujo" mediante la utilización de un tratamiento hidrotérmico, particularmente de un tratamiento que utiliza agua
10 caliente en fase líquida. Mediante la aplicación de este tratamiento, se extraen el hidroxitirosol y tirosol presentes en el alpeorujo de forma que se puede determinar su contenido. Estos compuestos tienen un importante valor añadido como antioxidantes en la industria alimentaria y farmacéutica.

Antecedentes de la invención

15 Actualmente, el sistema de extracción de aceite de oliva según un procedimiento de extracción en dos etapas [J. Alba, F. Hidalgo, M^aA. Ruiz, F. Martínez, M^a J. Moyano, A. Cert, M^aC. Pérez y M^a V. Ruiz. "Características de los aceites de oliva de primera y segunda centrifugación" *Grasas y Aceites* **47**, (1996) 163-181] ha reducido sustancialmente el volumen de los efluentes
20 producidos mediante el sistema tradicional en tres etapas que requiere la adición suplementaria de agua. No obstante, todavía se origina una elevada cantidad (alrededor de 2.600.000 t/año en España) de un residuo, denominado orujo de dos etapas o "alpeorujo", formado por la pulpa, el hueso y las aguas de vegetación. El producto agotado, con un contenido en grasa inferior al 1% y una
25 humedad en torno al 65%, es un residuo molesto y muy abundante (alrededor del 80% de la aceituna molturada) de imposible almacenamiento en la almazara. Debido a los problemas medioambientales, económicos y sociales que ocasiona la gran cantidad de subproducto generado, es necesario encontrar soluciones para un tratamiento integral del mismo que resulte factible desde un punto de
30 vista económico y no afecte negativamente al entorno medioambiental.

 La reutilización de este subproducto en las extractoras de aceite de orujo convencionales para una extracción adicional del resto de aceite contenido en el mismo, plantea una difícil problemática asociada a sus características de consistencia pastosa y elevado contenido en azúcares y sólidos finos, que hacen
35 muy difícil su utilización como tal en los sistemas convencionales de secado de

las orujeras. Si bien se están desarrollando varias investigaciones para optimizar el proceso de secado desde un punto de vista operacional y de ahorro energético [R. Arjona, A. García y P. Ollero "The drying of alpeorujo, a waste product of the olive mill industry", *Journal of Food Engineering* 41 (1999) 229-234], el elevado gasto energético de la etapa de reducción de humedad supone un claro inconveniente desde el punto de vista económico. Otra alternativa de tratamiento para reducir el volumen de este residuo, como es su incineración en plantas de combustión, también requiere un secado previo del material y además puede conllevar una serie de problemas medioambientales relacionados con las emisiones de gases tóxicos de la combustión. A este respecto, sería necesaria la utilización de los sistemas de limpieza de gases adecuados, lo que elevaría sustancialmente el coste económico global del proceso.

El alpeorujo contiene todos los azúcares y demás sustancias solubles que quedan disueltas en las aguas de vegetación del proceso convencional de extracción del aceite de oliva. Así pues, existe una posibilidad de revalorizar este residuo mediante la obtención de productos de alto valor añadido a partir del mismo, lo que supondría una mejora en la gestión de los subproductos de la industria olivarera, a la vez que permitiría la utilización de una fuente barata de materias primas para productos de interés industrial. Un ejemplo de esta aproximación a la revalorización del alpeorujo lo constituye la solicitud de patente ES 2060 549, que describe un procedimiento para la obtención de manitol y productos derivados a partir del alpeorujo, mediante procesos como dilución, filtración, decantación o centrifugación.

Además de compuestos como el manitol, en este subproducto se encuentran la mayoría de los polifenoles presentes en la pulpa y el hueso de aceituna, por lo que puede constituir una fuente adecuada de antioxidantes fenólicos naturales. Los compuestos fenólicos de la pulpa de la aceituna han sido extensamente investigados dada su importancia en el procesado de los frutos. El glucósido más abundante de la pulpa de la aceituna, la oleuropeína, está constituido por el éster heterosídico del ácido elenólico e hidroxitirosol y es el que confiere el sabor amargo a las aceitunas. La oleuropeína es muy abundante en los frutos verdes y su porcentaje se reduce cuantitativamente al alcanzar la madurez. También están presente en la pulpa el ligustrósido y el verbascósido. En el hueso, los glucósidos descritos son semejantes a los

anteriores y del tipo ligustrósido, de los que forma parte el tirosol en lugar de hidroxitirosol.

Los compuestos fenólicos más abundantes del alpeorujo son el tirosol e hidroxitirosol, junto con los ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferúlico y vanílico en menor cantidad. El hidroxitirosol procede principalmente de la oleuropeína del fruto que se hidroliza por medio de una esterasa presente en la misma durante la molienda de la aceituna. Estos polifenoles, que están presentes principalmente en los frutos, pero también en menor cantidad, en hojas, flores y otros órganos de la planta, son compuestos antioxidantes naturales que cumplen diversas funciones. En un reciente estudio se ha comprobado el efecto antioxidante de los mismos ya que bloquean el proceso en la etapa de iniciación, bien oxidándose ellos mismos con formación de compuestos peroxídicos de naturaleza más estable, o bien actuando sobre los radicales ya formados evitando la etapa de propagación. Por una parte, los fenoles presentes en la aceituna protegen al aceite de su degradación [Gutfinger, T. "Polyphenols in olive oils" *J. Am. Oil Chem Soc.* **58** (1981) 966-7], y al nivel del metabolismo humano, poseen infinitas acciones biológicas potentes, las cuales han sido estudiadas in vitro. La más importante de ellas es la inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), que constituye una etapa esencial dentro del proceso aterogénico. Pero los compuestos fenólicos presentan asimismo una importante actividad secuestradora de radicales libres (conocida como actividad "scavenger") [F. Visioli, G. Bellomo, C. Galli, "Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols". *Biochem Biophys Res. Municipality* **247** (1998), 60-64] frente a la producción de anión superóxido y ácido hipocloroso, por lo que actúan a modo de protección frente a los radicales libres de oxígeno y sus efectos tóxicos y por lo tanto evitan el envejecimiento celular y los tumores [R.W. Owen, A. Giacosa, W.E. Hull, R. Haubner, B. Spiegelhalder, H. Bartsch "The antioxidant/ anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil" *Eur. J. Cancer* **36**(10), (2000) 1235-1247], protegen frente a las enfermedades coronarias y están íntimamente relacionados con todos los beneficios atribuibles al consumo de aceite de oliva en la dieta mediterránea. Algunos de ellos, como el hidroxitirosol, son potentes inhibidores de la agregación plaquetaria y la generación de tromboxano y contrarrestan la producción del potente agente proinflamatorio leucotrieno B4.

El elevado potencial en la industria farmacéutica y alimentaria de estos compuestos de naturaleza fenólica ha promovido en los últimos años un creciente interés por su obtención partir de las hojas y frutos de olivo para diversas aplicaciones. Por ejemplo, en la solicitud de patente japonesa JP08119825 se describe la aplicación del hidroxitirosol obtenido por extracción del aceite de oliva como componente activo de formulaciones cutáneas para tratamientos de la piel. La solicitud de patente WO 00/36936, describe la preparación de composiciones alimentarias que contienen niveles incrementados de compuestos fenólicos procedentes del aceite de oliva para potenciar sus cualidades alimenticias. La patente US 6.165.475 se refiere a la utilización de la oleuropeína en diversas aplicaciones médicas o agrícolas, así como a un método para la preparación de un extracto acuoso rico en este compuesto a partir de los frutos. Sin embargo, no existen apenas referencias sobre la utilización de materiales vegetales, tales como la pulpa que queda después de la extracción del aceite de oliva sin tratar (bruta), como sustrato para la recuperación de polifenoles, constituyendo la utilización de este sustrato bruto uno de los aspectos novedosos de la presente invención. En un trabajo publicado por los solicitantes para la producción de bioetanol a partir del alpeorujo [I. Ballesteros, J.M. Oliva, M.J. Negro, P. Manzanares, M. Ballesteros, "Ethanol production from olive oil extraction residue pretreated with hot water" Applied Biochemistry and Biotechnology, 98-100 (2002) 717-732], se describe que tras un tratamiento hidrotérmico realizado para favorecer la posterior transformación a etanol de la celulosa contenida en el sustrato, se obtienen compuestos fenólicos como los descritos en la presente solicitud. No obstante, el residuo utilizado en dicho trabajo ha sido sometido a un proceso de lavado y secado antes de su utilización con el fin de favorecer el proceso posterior de fermentación al que se somete. Sorprendentemente, los solicitantes han encontrado ahora que la utilización de este sustrato en estado bruto, es decir tal como se recibe de la almazara, sin haber sido sometido a ningún tratamiento previo de lavado y secado, es ventajosa en un procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos como el descrito en esta solicitud. En primer lugar, la utilización de alpeorujo bruto evita el gasto de agua en la etapa de lavado y la posterior generación de un residuo líquido, cuya gestión puede resultar problemática desde el punto de vista medioambiental. Además, supone una clara ventaja desde un punto de vista de ahorro energético ya que se evita la

etapa de secado posterior al lavado que se describe en el trabajo citado anteriormente. Finalmente, al utilizar el sustrato bruto se obtienen rendimientos más elevados de hidroxitirosol y tirosol que los correspondientes al mismo sustrato previamente lavado y secado.

- 5 En cuanto a los métodos de extracción de los compuestos fenólicos mayoritarios presentes en las hojas y los frutos, éstos varían dependiendo del tipo de material de partida. Así, se han descrito métodos de extracción de polifenoles con disolventes orgánicos tales como metanol/agua para la extracción en frutos [D. Ryan, H. Lawrence, P. Prenzler, M. Antolovich, K.
- 10 Robards. "Recovery of phenolic compounds from *Olea europaea*" *Analytica Chimica Acta* 445 (2001), 67-77], alcohol para extractos a partir de hojas (patente US 5.714.150), y éter/acetato de etilo [A.D. Bianco, I. Muzzalupo, A. Piperno, G. Romeo, N. Uccella "Bioactive derivatives of oleuropein from olive fruits" *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999), 3531-3534] o metanol [F. Angerosa, N.
- 15 D'Alessandro, Konstantinou, P., L. Di Giacinto "GC-LC evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil" *J. Agric. Food. Chem.* 43 (1995), 1802-1807] aplicados a la extracción de polifenoles del aceite de oliva. L. Lesage-Meesse et al., [L. Lesage-Meessen, D. Navarro, S. Maunier, J-C Sigoillot, J. Lorquin, M. Delattre, J-L. Simon, M. Asther y M. Labat. "Simple phenolic content in olive oil
- 20 residues as a function of extraction systems" *Food Chemistry* 75(4) (2001) 501-507] describen la extracción de tirosol e hidroxitirosol del residuo de la obtención de aceite de oliva utilizando acetato de etilo, permitiendo recuperaciones de alrededor del 30% del total de fenoles presentes en el residuo. No obstante, todos estos métodos presentan el inconveniente de su elevado coste en cuanto
- 25 a la utilización de disolventes y la generación de residuos de difícil eliminación. En la patente WO 01/45514, se describe un método de extracción de composiciones antioxidantes a partir de los frutos y subproductos de la extracción del aceite de oliva, en un procedimiento multietapa que emplea varias extracciones acuosas y/o polares y matrices sólidas que es considerablemente
- 30 más complejo que el de la presente solicitud. En la solicitud de patente española ES 2143939, se describe la utilización de un procedimiento de explosión a vapor para la recuperación de los componentes estructurales fenólicos de los huesos de aceituna y las cáscaras de la semilla. Mediante este procedimiento, los materiales se tratan en un equipo de explosión a vapor de 2 l, a temperaturas de
- 35 alrededor de 200°C durante periodos de tiempo de 2 a 4 minutos, produciéndose

a continuación una descompresión brusca y la posterior descarga del reactor. Los resultados obtenidos muestran que en hueso se extrae hidroxitirosol en concentraciones en el extracto soluble de hasta 1% en peso seco de hueso, cantidad menor a la obtenida en la pulpa, donde este polifenol se encuentra mayoritariamente. En el caso de la cáscara de semillas, se obtiene tirosol en concentraciones de hasta 0,5% en peso seco y se comprueba que la adición de ácido al material antes del tratamiento aumenta sensiblemente las cantidades de fenoles detectadas en el extracto soluble.

El objetivo de la presente invención es extraer los derivados fenólicos presentes en materiales vegetales residuales brutos, en particular en el residuo que queda tras la extracción del aceite de oliva por un proceso de centrifugación en dos etapas (alpeorujo), mediante un tratamiento hidrotérmico que emplea agua a elevada temperatura y a presión para mantener el agua en fase líquida.

En el sentido utilizado en esta descripción, el término "materiales vegetales residuales brutos" incluye a residuos de origen vegetal que contengan derivados fenólicos, en particular derivados fenólicos, de interés industrial, tales como el alpeorujo, restos de huesos de aceituna, cáscaras de semilla de aceituna, residuos de mazorca de maíz, etc, que no han sido sometidos previamente a su utilización, a ningún proceso de lavado y/o secado.

Tal como se utiliza en esta descripción, derivados fenólicos de interés industrial, incluye a los fenoles tirosol e hidroxitirosol.

En la presente invención se utiliza un tratamiento hidrotérmico, el cual utiliza agua caliente en fase líquida, para la extracción de derivados fenólicos del residuo bruto de la extracción del aceite de oliva. Esta aplicación del tratamiento con agua caliente a la recuperación de compuestos fenólicos supone una nueva utilización del mismo que hasta el momento ha sido empleado fundamentalmente como pretratamiento de materiales lignocelulósicos previo a una hidrólisis enzimática de la celulosa a glucosa, como se describe en la patente US 5.846.787. Este tratamiento, en el caso del alpeorujo bruto, supone una ventaja frente a los métodos de extracción antes mencionados ya que permite recuperar los fenoles de interés sin adición exógena de disolventes ni ácidos, lo que da por resultado una mayor economía del proceso global y una menor cantidad de residuos a eliminar.

El método de extracción mediante tratamiento hidrotérmico de esta invención se basa en someter al material a tratar a un tratamiento con agua

caliente a una temperatura de 180 a 240°C, en un reactor cerrado tipo autoclave, a una presión tal que permite mantener el agua en fase líquida, durante un periodo de tiempo apropiado, de 4 a 30 minutos, con el fin de solubilizar los derivados fenólicos mayoritarios presentes en dicho material. A continuación, se recupera la fracción líquida mediante filtración y se determina su contenido en fenoles. Durante el tratamiento del sustrato de la presente invención, se produce una autohidrólisis de los restos hemicelulósicos contenidos en dicho residuo de pulpa que genera la liberación de grupos acetilo y en consecuencia una disminución del pH de la fracción líquida, favoreciéndose así la solubilización de los fenoles de interés. Una vez extraídos los derivados fenólicos, se determina su concentración en los extractos acuosos mediante técnicas de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) o técnicas de espectroscopía, que son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos presentes en materiales vegetales residuales brutos, en particular en el residuo bruto del proceso de obtención de aceite de oliva en dos etapas, denominado "alpeorajo", mediante la utilización de un tratamiento hidrotérmico que utiliza agua caliente en fase líquida. El material residual bruto se trata en un reactor tipo autoclave a una temperatura de 180°C a 240°C durante un periodo de tiempo apropiado, manteniendo durante ese periodo de tiempo el agua en fase líquida mediante la aplicación de la presión adecuada. A continuación, el reactor se enfría, el material húmedo se filtra y se determina el contenido en tirosol e hidroxitirosol en la fracción líquida. Mediante este tratamiento se puede obtener un extracto acuoso con un contenido de hasta 1,9 % (p/p) de hidroxitirosol y 0,7% (p/p) de tirosol, a partir del cual se pueden obtener los compuestos de interés mediante técnicas de extracción/purificación convencionales.

La aplicación del tratamiento hidrotérmico a la recuperación de fenoles solubles supone uno de los aspectos novedosos de esta invención y una ventaja respecto a los métodos descritos en la técnica en cuanto a que no emplea disolventes y/o ácidos, ni se producen despresurizaciones bruscas como ocurre en el tratamiento de explosión a vapor. Por otra parte, la utilización como

5 sustrato de un material vegetal residual cuya eliminación puede llegar a suponer un problema, implica una clara ventaja desde el punto de vista medioambiental y de gestión de residuos. Además, la utilización de este material en estado bruto supone nuevas ventajas desde el punto de vista económico y medioambiental respecto al material previamente lavado y secado, a la vez que permite aumentar los rendimientos de los compuesto fenólicos extraídos.

Breve descripción de los dibujos

10 Para complementar la descripción que antecede y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, se va a realizar una descripción detallada de una realización preferida, en base a un juego de dibujos que se acompañan a esta memoria descriptiva y en donde, con carácter meramente orientativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

15 La Figura 1 muestra un diagrama esquemático del reactor tipo autoclave, con agitación, que se ha utilizado en la realización del procedimiento objeto de la presente invención.

Descripción detallada de la invención

20 El material de partida utilizado en la realización particular de la presente invención es el residuo bruto de la extracción del aceite de oliva mediante un proceso de centrifugación en dos etapas, denominado alpeorujo, que contiene restos de la pulpa, el hueso y las aguas de vegetación.

25 El reactor utilizado en la presente invención puede ser cualquier reactor diseñado para poder ser presurizado a presiones tales que el agua a una temperatura de 180-240°C se mantenga en fase líquida. En una realización particular, se ha utilizado un reactor de acero inoxidable tipo autoclave provisto de una resistencia eléctrica y agitación magnética, con control de temperatura y velocidad de agitación (Fig. 1). Alrededor del reactor se acopla una unidad de refrigeración tipo serpentín para enfriar el reactor una vez finalizado el tiempo de tratamiento. Este tipo de reactores está disponible en varios tamaños, de 60 a 1000 ml y la temperatura del agua puede alcanzar de 100°C a 600°C. Una 30 temperatura preferida para la realización del procedimiento objeto de esta invención es la comprendida entre 180°C y 240°C. La presión máxima dentro del reactor puede alcanzar de 4,5 a 22,4 MPa, dependiendo del volumen del reactor y la temperatura de calentamiento seleccionada. La velocidad de calentamiento es de 2,5-3 °C/minuto. El tiempo de residencia del sustrato en el 35 reactor hasta alcanzar la temperatura de tratamiento es de 60 a 90 minutos.

Una vez alcanzada la temperatura de tratamiento en interior del reactor, el periodo de tiempo de tratamiento a la temperatura seleccionada es variable, típicamente entre 4 y 30 minutos en esas condiciones.

El sustrato se introduce a temperatura ambiente (de 15 a 25°C) en el reactor, y se añade agua hasta alcanzar una proporción que permita tener una relación final sólido/líquido en el reactor de entre 1/5 y 1/15, por ejemplo 1/12. La velocidad del agitador se establece de manera que se consiga una mezcla acuosa completa, preferiblemente de 400 a 700 rpm. Se fija la temperatura de tratamiento y una vez alcanzada ésta, se comienza a contabilizar el tiempo de tratamiento previamente establecido. Una vez finalizado el tratamiento, se retira el reactor de la camisa de calentamiento y se carga agua fría a través del serpentín. La temperatura del contenido del reactor baja a 130°C en aproximadamente 2 minutos. El reactor permanece cerrado y la mezcla en agitación hasta que la temperatura desciende hasta aproximadamente 40°C. A continuación se abre el reactor, se descarga el material y éste se filtra. Se determina el contenido en tirosol e hidroxitirosol mediante técnicas estándares de cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

Ejemplo 1

El material utilizado en este ejemplo es un alpeorujo residual bruto de un proceso de obtención de aceite de oliva en dos etapas, proporcionado por la empresa Oleica el Tejar S.C.L. (Córdoba, España), del que se había separado la fracción mayoritaria de hueso residual.

En primer lugar, se toma una muestra de la pulpa bruta y se calcula su contenido en sólidos mediante secado en estufa a 105°C hasta peso constante. El material citado anteriormente utilizado en este ejemplo tenía un porcentaje en sólidos del 30% (p/p).

Se utiliza un reactor de acero inoxidable tipo autoclave modelo EZE-Seal (Autoclave Engineers, Erie, Pensilvania, USA) de 500 ml de volumen, con una capacidad nominal de 400 ml. Según la utilización descrita en la presente invención, se abre el reactor y se introducen 160 g de sustrato bruto (48 g de peso seco según el % calculado anteriormente) y agua hasta 400 ml, a temperatura ambiente. La velocidad del agitador (1) se establece en 600 rpm. Se coloca la camisa calefactora (2) y la temperatura de tratamiento se establece en 225°C. Comienza el calentamiento del reactor y una vez alcanzada la temperatura seleccionada, se inicia un periodo de tratamiento del sustrato de 4

minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se desconecta el calentamiento y se retira la camisa calefactora (2). A continuación, se hace pasar agua a través del serpentín (3) y se deja enfriar la mezcla en agitación dentro del reactor cerrado, hasta que el termopar (4) conectado al reactor marca una temperatura de
5 aproximadamente 40°C. Se abre el reactor, y se descarga el sustrato tratado a través de una toma (5).

El sustrato se filtra y se determina el contenido en tirosol e hidroxitirosol mediante HPLC en un equipo Hewlett-Packard (Palo Alto, CA) equipado con un detector con conjunto de diodos. La separación cromatográfica se lleva a cabo
10 con una columna de acero inoxidable Aminex HPX-87H de Bio-Rad (Hercules, CA) utilizando ácido sulfúrico y acetonitrilo (82/18, v/v) como eluyente. Los compuestos de interés se identifican por su tiempo de retención y espectro de absorción en el intervalo de densidad óptica de 200-320 nm. La cuantificación se realiza utilizando estándares de tirosol, disponible en Sigma, (St. Louis, MO) y
15 oleuropeína suministrada por Extrasynthese (Genay, France). El estándar de hidroxitirosol se obtuvo a partir de la oleuropeína por hidrólisis ácida, según describen E. Graciani y A. Vázquez ["A Study of the poplar compounds in olive oil by high performance liquid chromatography (HPLC). Chromatography in inverse phase". *Grasas y Aceites* 31 (1980), 237-243].

20 Los resultados obtenidos muestran un contenido de hidroxitirosol y tirosol en la fracción líquida de 1,85% y 0,6% (sobre peso seco de pulpa), respectivamente.

Reivindicaciones

1. Procedimiento de extracción de compuestos fenólicos a partir de un material vegetal residual bruto mediante un tratamiento hidrotérmico, caracterizado por poner en contacto dicho material vegetal residual bruto, en
5 un reactor cerrado, con agua caliente a una temperatura comprendida entre 180°C y 240°C, y a una presión tal que el agua se mantiene en fase líquida.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el citado material vegetal residual bruto se selecciona entre los residuos del
10 proceso de obtención del aceite de oliva, tales como huesos, cáscaras de semillas, alpeorujo y mezcla de los mismos.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el citado reactor es un reactor agitado tipo autoclave.
- 15 4. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 ó 3, caracterizado por comprender las etapas de:
 - a) añadir el material vegetal residual bruto al reactor y ajustar la relación sólido/líquido en el reactor con agua, de manera que ésta esté
20 comprendida entre 1/5 y 1/15 (p/v);
 - b) agitar;
 - c) calentar a una temperatura entre 180 y 240°C, y a una presión tal que mantenga el agua en fase líquida;
 - d) mantener la mezcla en agitación durante un periodo de tiempo
25 comprendido entre 4 y 30 min ;y,
 - e) enfriar el reactor hasta aproximadamente 40°C, descargar la mezcla, filtrar y recuperar la fracción líquida.
5. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizado porque el contenido en tirosol e hidroxitirosol se determina mediante técnicas
30 estándares de HPLC.

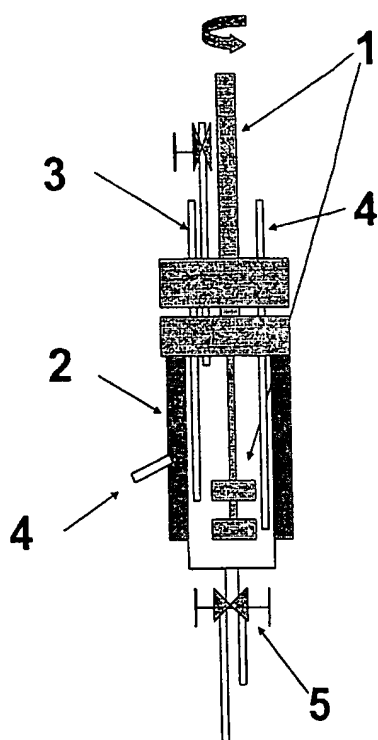


FIG. 1